

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES  
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum  
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum  
29. März 2001 (29.03.2001)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer  
**WO 01/21585 A2**

(51) Internationale Patentklassifikation<sup>7</sup>: C07D 203/00

(LV). DOMRACHEVA, Ilona [LV/LV]; Maskavas Strasse  
303-86, LV-1063 Riga (LV).

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE00/03441

(74) Anwalt: SCHUBERT, Klemens; Joachimstrasse 9, 10119  
Berlin (DE).

(22) Internationales Anmeldedatum:  
22. September 2000 (22.09.2000)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:  
199 47 440.0 24. September 1999 (24.09.1999) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von  
US): ANALYTICON DISCOVERY GMBH [DE/DE];  
Hermannswerder Haus 17, 14473 Potsdam (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AG, AL, AM, AT,  
AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CR, CU,  
CZ, DE, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM,  
HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK,  
LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX,  
MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL,  
TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (regional): ARIPO-Patent (GH,  
GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eura-  
sisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM),  
europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI,  
FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI-Patent  
(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE,  
SN, TD, TG).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): KALVINS, Ivars  
[LV/LV]; Miera Strasse 17-8, LV-2165 Salaspils (LV).  
ADRIANOV, Viktor [LV/LV]; Zemes Strasse 4-11,  
LV-1063 Riga (LV). SHESTAKOVA, Irina [LV/LV];  
Spilves Strasse 7-37, LV-1055 Riga (LV). KANEPE,  
Iveta [LV/LV]; Zentenes Strasse 16-28, LV-1064 Riga

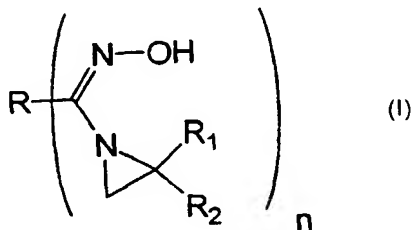
Veröffentlicht:

— Ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu  
veröffentlichen nach Erhalt des Berichts.

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: 1-AZIRIDINO-1-HYDROXYIMINOMETHYL-DERIVATIVES, METHOD FOR THE PRODUCTION THEREOF  
AND MEDICAMENTS CONTAINING SAID COMPOUNDS

(54) Bezeichnung: 1-AZIRIDINO-1-HYDROXYIMINOMETHYL-DERIVATE, VERFAHREN ZU DEREN HERSTELLUNG  
UND DIESE VERBINDUNGEN ENTHALTENDE ARZNEIMITTEL



(57) Abstract: Disclosed are novel 1-aziridino-1-hydroxyiminomethyl derivatives of general formula (I), wherein R represents any organic group which can covalently bond to two aziridinomim groups, R<sub>1</sub> and R<sub>2</sub> independently represent a hydrogen atom or a CH<sub>3</sub>, -C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, -CN, -COOH, -COOCH<sub>3</sub>, -COOC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, -CONH<sub>2</sub> or -C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> group, and n stands for a whole number 2. The invention also relates to a method for the production of said compounds and pharmaceutical products containing said compounds. The compounds of general formula (I) have an anti-tumoral effect.

(57) Zusammenfassung: Beschrieben sind neue 1-Aziridino-1-hydroxyiminomethyl-Derivate der allgemeinen Formel (I), worin R einen beliebigen organischen Rest bedeutet, der in der Lage ist, zwei Aziridinomim-Gruppierungen kovalent zu binden. R<sub>1</sub> und R<sub>2</sub> unabhängig voneinander für ein Wasserstoffatom oder eine -CH<sub>3</sub>, -C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, -CN, -COOH, -COOCH<sub>3</sub>, -COOC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, -CONH<sub>2</sub> oder -C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> Gruppe stehen, n für eine ganze Zahl 2 steht, sowie ein Verfahren zu deren Herstellung und diese Verbindungen enthaltende Arzneimittel. Die Verbindungen der allgemeinen Formel (I) zeigen antitumorale Wirkung.

WO 01/21585 A2



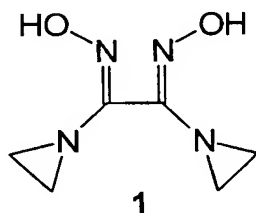
*Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes, und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.*

**1-Aziridino-1-hydroxyiminomethyl-Derivate,  
Verfahren zu deren Herstellung  
und diese Verbindungen enthaltende Arzneimittel**

5 Die vorliegende Erfindung betrifft 1-Aziridino-1-hydroxyiminomethyl-Derivate, Verfahren zu deren Herstellung und diese Verbindungen enthaltende Arzneimittel.

10 Im Stand der Technik ist bisher nur ein Bisaziridinoxim der Formel 1 bekannt (Andrianov, V.G., Ereemeev, A.V., Zh. Org. Khim. (1991), 27, 112-16; Ereemeev, A.V., Piskunova, I.P., Andrianov, V.G., Liepins, E., Khim, Geterotsikl. Soedin (1982), (4) 488-94; Musluoglu, E., Ahsen, V., J. Chem. Research (S) (1999), 142-143).

15

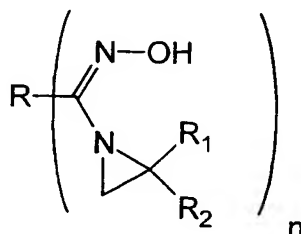


20 Von den biologischen Eigenschaften dieser Verbindung 1,1'-[1,2-bis-(Hydroximino)-1,2-ethandiyl]bis-aziridin (1) oder deren Verwendung als Arzneimittel ist bisher nichts berichtet worden.

25 Ferner sind aus der DE-OS 21 32 598 u.a. Mono-Aziridinoxime bekannt, welche als Herbizide verwendet werden. In der WO 97/16439 werden gleichfalls Aziridinoxime beschrieben, welche zur Behandlung von Erkrankungen verwendet werden, die mit der Funktion des Chaperon-Systems in Verbindung stehen. Keinesfalls sind jedoch Bis-, Tris- oder gar Tetra-Aziridinoxime beschrieben worden.

30

Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist es, neue 1-Aziridino-1-hydroxyiminomethyl-Derivate der allgemeinen Formel I



I

sowie ein Verfahren zu deren Herstellung zur Verfügung zu stellen. Eine weitere Aufgabe ist es, Arzneimittel die eine Verbindung der allgemeinen Formel I enthalten, zur Verfügung zu stellen.

In der allgemeinen Formel I bedeutet R einen beliebigen organischen Rest, der in der Lage ist, zwei Aziridinoxim-Gruppierungen, kovalent zu binden,

R<sub>1</sub> und R<sub>2</sub> stehen unabhängig voneinander für ein Wasserstoffatom oder eine -CH<sub>3</sub>, -C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, -CN, -COOH, -COOCH<sub>3</sub>, -COOC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, -CONH<sub>2</sub> oder -C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> Gruppe stehen und n eine ganze Zahl 2 ist.

Bevorzugt ist, daß R ausgewählt ist aus einer Einfachbindung, linearen oder verzweigten und gesättigten oder ungesättigten Alkanen oder Heteroalkanen mit bis zu 6 C-Atomen und mit bis zu vier Heteroatomen, C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>-

Cycloalkanen, welche gegebenenfalls mit kurzkettigen C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl-, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkoxy-, Nitro-, Amino-, monosubstituierten Amino-, und/oder Halogen-Resten substituiert sind, heterocyclischen Verbindungen mit 3 bis 6 Ringatomen und bis zu vier Heteroatomen,

aromatischen Verbindungen mit bis zu 8 Ringatomen, welche gegebenenfalls mit Cyano-, Hydroxy-, kurzkettigen C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl-, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkoxy-, Nitro-, Amino-, monosubstituierten

Amino-, Trihalogenalkyl- und/oder Halogen-Resten substituiert sind und Heteroarylen mit 3 bis 7 Ringatomen und bis zu vier Heteroatomen.

5

Besonders bevorzugt ist es dabei, daß der Grundkörper R ausgewählt ist aus Einfachbindung, Methyl, Ethan, Ethen, Ethin, Propan, Isopropan, Butan, Isobutan, sec-Butan, Pentan, Isopentan, Neopentan, Hexan, Azin, Cylopropan, Cyclobutan, Cyclopentan, Cyclohexan, Cycloheptan, Cyclooctan, Pyrrol, Pyrrolin, Pyrrolidin, Imidazol, Imidazolin, Pyrazolidin, Thiazol, Thiazolin, Thiazolidin, Isothiazol, Isothiazolin, Isothiazolidin, Benzothiazol, Furan, Dihydrofuran, Tetrahydrofuran, Benzofuran, Thiophen, Benzothiophen, Oxazol, Oxazolin, Oxazolidin, Benzoxazol, Isoxazol, Isoxazolin, Isoxazolidin, Piperidin, Piperazin, Pyrimidin, Morpholin, Dihydropyran, Tetrahydropyran, Pyridazin, Benzol, Furoxan, Imidazol, Imidazolin, Imidazolidin, Pyrazol, Pyrazolin, Pyrazolidin, Pyridin und dessen N-Oxid, Dihydropyridin, Pyrimidin, Pyrazin. Dabei ist klar, daß die jeweiligen Heteroatome an beliebigen Stellen im Ring positioniert sind.

Weiterhin bevorzugt ist es, daß  $R_1$  und  $R_2$  unabhängig von einander Wasserstoffatome sind oder einen Rest  $-CONH_2$  darstellen.

Ganz besonders bevorzugt sind

2,6-Bis-(1-aziridino-1-hydroxyiminomethyl)pyridin (6),

1,4-Bis-(1-aziridino-1-hydroxyiminomethyl)benzol (7),

1,4-Di-( $\alpha$ -2-carbamoylaziridino- $\alpha$ -hydroxyiminomethyl)-benzol (8),

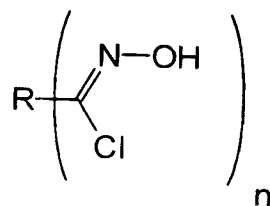
1,3-Bis-(1-aziridino-1-hydroxyiminomethyl)benzol (9),

1,3,5-Tris-(1-aziridino-1-hydroxyiminomethyl)benzol (10),

1,3-Di-( $\alpha$ -2-carbamoylaziridino- $\alpha$ -hydroxyiminomethyl)-benzol (11),

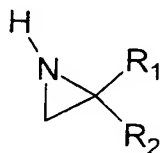
- 2,6-Di-( $\alpha$ -2-carbamoylaziridino- $\alpha$ -hydroxyiminomethyl)-  
pyridin (12),  
3,5-Bis-(1-aziridino-1-hydroxyiminomethyl)pyridin (13),  
2,5-Bis-(1-aziridino-1-hydroxyiminomethyl)pyridin (14),  
5 2,4-Bis-(1-aziridino-1-hydroxyiminomethyl)pyridin (15),  
2,5-Bis-(1-aziridino-1-hydroxyiminomethyl)furan (16),  
3,4-Bis-[(aziridinyl-1)-hydroxyiminomethyl]furoxan (17),  
Bis-(2-methoxycarbonylaziridino)glyoxim (18),  
Bis-(2-carbamoylaziridino)glyoxim (19),  
10 2,2'-Azinobis(1-aziridino-1-hydroxyimino)propan (20) und  
2,2'-Azinobis[1-(2-carbamoylaziridino)-1-hydroxy-  
imino]propan (21).

- 15 Ein weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist  
ein Verfahren zur Herstellung von erfindungsgemäßen 1-  
Aziridino-1-hydroxyiminomethyl-Derivaten, wobei man in an  
sich bekannter Weise eine Halogenverbindung der allgemei-  
nen Formel II



II

20 worin R und n die oben angegebene Bedeutung haben,  
mit einem Aziridin-Derivat der allgemeinen Formel III

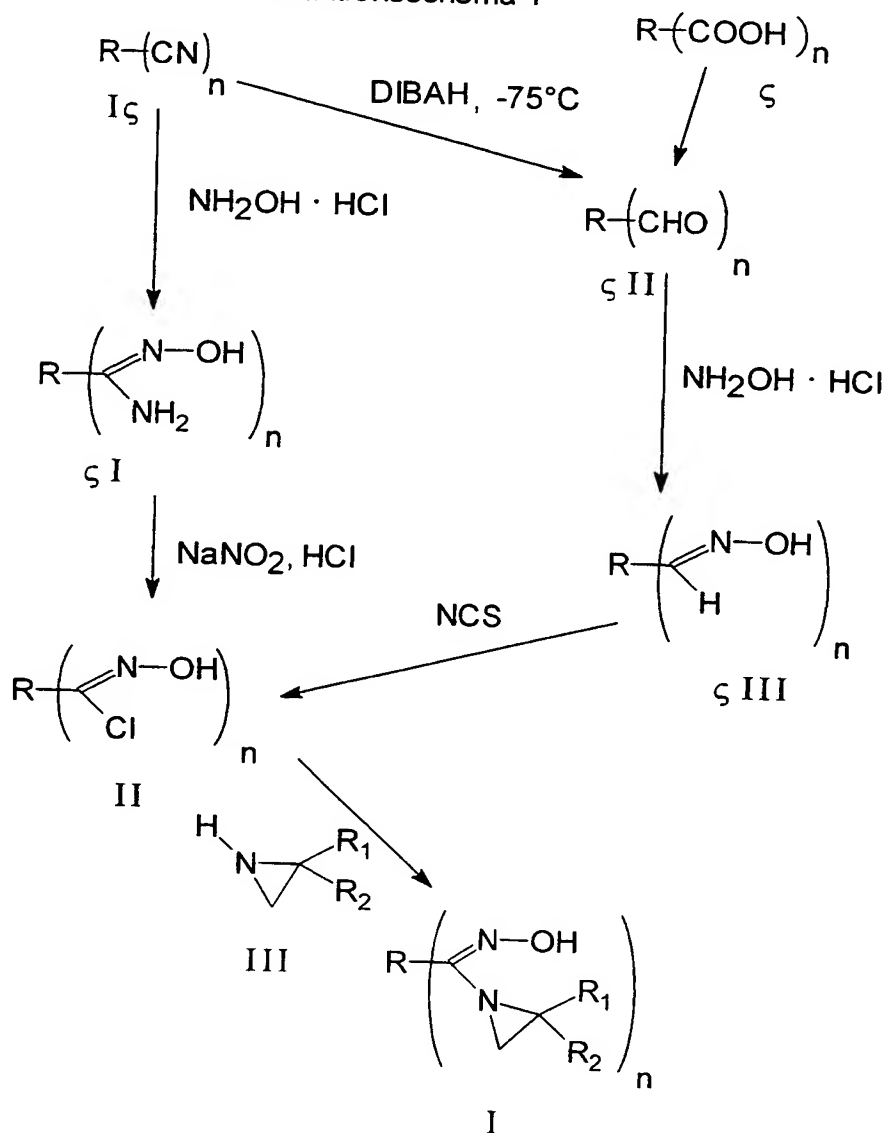


III

worin  $R_1$  und  $R_2$  die oben angegebene Bedeutung haben, umgesetzt.

Die erfindungsgemäßen Verbindungen der Formel I lassen  
5 sich nach dem Formelschema 1 in an sich bekannter Weise  
herstellen. Zu diesem Zweck werden Nitrile der allgemeinen  
Formel IV durch Reaktion mit Hydroxylamin-  
Hydrochlorid in die Carboxamidoxime der allgemeinen  
Struktur VI überführt. Durch Diazotierung im salzsauren  
10 Milieu werden die chlorierten Oxime der Struktur II erhalten,  
die anschließend durch Reaktion mit Aziridinen der Formel III  
in die erfindungsgemäßen Verbindungen der Formel I überführt  
werden können. Alternativ kann, wie im Formelschema 1 angegeben,  
15 die Synthese ausgehend von den Carbonsäuren V über in der Literatur  
beschriebene Standardverfahren durchgeführt werden. Das experimentelle  
Verfahren ist für die Sequenz  $IV \rightarrow VI \rightarrow II \rightarrow I$  in den  
Beispielen angegeben.

## Reaktionsschema 1



Ein weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind Arzneimittel, gekennzeichnet durch einen Gehalt an einer Verbindung gemäß der allgemeinen Formel I.

Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind auch Arzneimittel zur oralen, rektalen, subcutanen, intravenösen oder intramuskulären Applikation, die neben üblichen Träger- und Verdünnungsmitteln eine Verbindung der allgemeinen Formel I als Wirkstoff enthalten.



Geeignete Zubereitungsformen und deren Herstellung sind an sich bekannt und beispielsweise beschrieben in „Hagers Handbuch der pharmazeutischen Praxis“, Springer Verlag -  
5 Berlin - Heidelberg, 1991, Band 2, S. 622ff.

Die Arzneimittel der Erfindung werden mit den üblichen festen oder flüssigen Trägerstoffen oder Verdünnungsmitteln und den üblicherweise verwendeten pharmazeutisch-  
10 technischen Hilfsstoffen entsprechend der gewünschten Applikationsart mit einer geeigneten Dosierung in bekannter Weise hergestellt. Die bevorzugten Zubereitungen bestehen in einer Darreichungsform, die zur oralen Applikation geeignet ist. Solche Darreichungsformen sind beispielsweise  
15 Tabletten, Filmtabletten, Dragees, Kapseln, Pillen, Pulver, Lösungen oder Suspensionen oder Depotformen.

Selbstverständlich kommen auch parenterale Zubereitungen wie Injektionslösungen in Betracht. Weiterhin seien als  
20 Zubereitungen beispielsweise auch Suppositorien genannt.

Entsprechende Tabletten können beispielsweise durch Mischen des Wirkstoffs mit bekannten Hilfsstoffen, beispielsweise inerten Verdünnungsmitteln wie Dextrose, Zucker, Sorbit, Mannit, Polyvinylpyrrolidon, Sprengmitteln  
25 wie Maisstärke oder Alginsäure, Bindemitteln wie Stärke oder Gelantine, Gleitmitteln wie Magnesiumstearat oder Talk und/oder Mitteln zur Erzielung eines Depoteffektes wie Carboxylpolymethylen, Carboxylmethylcellulose, Celluloseacetatphthalat oder Polyvinylacetat, erhalten werden.  
30 Die Tabletten können auch aus mehreren Schichten bestehen.

Entsprechend können Dragees durch Überziehen von analog  
4 35 den Tabletten hergestellten Kernen mit üblicherweise in Drageeüberzügen verwendeten Mitteln, beispielsweise Poly-

5 vinylpyrrolidon oder Schellack, Gummiarabicum, Talk, Ti-  
tandioxid oder Zucker, hergestellt werden. Dabei kann  
auch die Drageehülle aus mehreren Schichten bestehen, wo-  
bei die oben bei den Tabletten erwähnten Hilfsstoffe ver-  
wendet werden können.

10 Lösungen oder Suspensionen mit dem erfindungsgemäßen  
Wirkstoff können zusätzlich geschmacksverbessernde Mittel  
wie Saccharin, Cyclamat oder Zucker sowie z. B. Aroma-  
stoffe wie Vanillin oder Orangenextrakt enthalten. Sie  
können außerdem Suspendierhilfsstoffe wie Natriumcarboxy-  
methylcellulose oder Konservierungsstoffe wie p-Hydroxy-  
benzoate enthalten. Wirkstoffe enthaltende Kapseln können  
beispielsweise hergestellt werden, indem man den Wirk-  
stoff mit einem inerten Träger wie Milchzucker oder Sor-  
bit mischt und in Gelatinekapseln einkapselt.

20 Geeignete Suppositorien lassen sich beispielsweise durch  
Vermischen mit dafür vorgesehenen Trägermitteln wie Neut-  
ralfetten oder Polyäthylenglykol bzw. deren Derivaten  
herstellen.

25 Selbstverständlich kommen auch transdermale therapeuti-  
sche Systeme (TTS) in Betracht.

30 Die erfindungsgemäßen Verbindungen der allgemeinen Formel  
I zeigen antitumorale Wirksamkeit. In der Tabelle 1 sind  
die antitumoralen Aktivitäten einiger erfindungsgemäßer  
Verbindungen im Monolayer-Zytoxitätstest an ausgewählten  
Zelllinien dargestellt. Überraschend ist dabei die geringe  
Empfindlichkeit von Fibroblasten und Endothelzellen bei  
der Anwendung der erfindungsgemäßen Verbindungen

35 Ein weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist  
daher die Verwendung der 1-Aziridino-1-  
hydroxyiminomethyl-Derivate gemäß der allgemeinen Formel

I zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung von Tumoren oder von Krebserkrankungen.

5 Gegenstand ist aber auch die Verwendung der 1-Aziridino-1-hydroxyiminomethyl-Derivate gemäß der allgemeinen Formel I zur Behandlung von Tumoren oder von Krebserkrankungen.

10 Ein weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist die Verwendung von 1,1'-[1,2-bis-(Hydroximino-)-1,2-ethandiyl]bis-aziridin (1) zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung von Tumoren oder von Krebserkrankungen sowie die von 1,1'-[1,2-bis-(Hydroximino-)-1,2-ethandiyl]bis-aziridin (1) zur Behandlung von Tumoren o-  
15 der von Krebserkrankungen.

Tabelle 1:

Antitumorale Wirksamkeit ausgewählter erfindungsgemäßer Verbindungen

20

Substanz IC <sub>50</sub> [µg/ml]	<u>1</u>	<u>6</u>	<u>14</u>	<u>7</u>	<u>9</u>	<u>10</u>	<u>16</u>
Organ/Zelllinie							
Kolon HT29	0.486	0.117	0.200	0.258	0.329	0.670	0.481
Magen GXF 251L	0.781	0.020	0.717	0.542	1.506	3.964	1.661
Lunge LXFL 529	0.441	0.027	0.006	0.038	0.063	0.100	0.099
Brust 401NL	0.040	0.207	0.011	0.018	0.060	0.043	0.039
Niere 944LL	0.923	0.115	0.198	0.348	0.788	0.750	1.359
Uterus 1138L	0.173	0.014	0.034	0.038	0.066	0.111	0.073

Von der erfindungsgemäßen Verbindung 6 wurden an insgesamt 12 Zelllinien (Tabelle 3) die mittleren IC<sub>50</sub>-Werte im Vergleich zum Therapiestandard 5-Fluor-Uracil ermittelt  
25 (5FU) (siehe Tabelle 2).

Aus diesen Werten geht eine deutliche Überlegenheit der erfindungsgemäßen Verbindung gegenüber dem Therapiestandard hervor.

5      Tabelle 2

Vergleich der antitumoralen Wirkung von (6) mit dem Therapiestandard 5-Fluoruracil (5FU)

Verbindung	IC <sub>50</sub> [µg/ml]
(6)	0,030
5FU	0,054

Tabelle 3

10      Verwendete Tumorzelllinien

Tumor	Zelllinie
Brust	MAXF 401NL
	MCF-7
Kolon	HT29
Magen	GXF251L
Lunge	LXFA 629L
	LXFE66L
	LXFL529
Melanom	MEXF 462NL
	MEXF 514L
Eierstock	OVCAR3
Niere	RXF 944L
Uterus	UXF 1138L

Die nachfolgende Beispiele erläutern die Erfindung.

Beispiele

15

Beispiel 1

Darstellung von 2,6-Bis-(1-aziridino-1-hydroxyimino-methyl)pyridin (6)

20

Pyridin-2,6-dicarboxamidoxim

Zu einer Lösung von Hydroxylamin-Hydrochlorid (18,07 g; 26 mmol) und NaOH (10,40 g; 26 mmol) in H<sub>2</sub>O (90 ml) wird unter starkem Rühren eine Lösung von Pyridin-2,6-dicarbonitril (12,9 g; 10 mmol) in Ethanol (60 ml) getropft. Eine exotherme Reaktion tritt ein, anschließend wird 1,5 h bei 40-50°C weitergerührt. Nach Abkühlen wird der Niederschlag abfiltriert und mit H<sub>2</sub>O gewaschen. Man erhält nach dem trockenen 16,5 g (85% d. Tr.) Produkt. M.p. 237-239°C. <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 6,20 (4H, s, NH<sub>2</sub>); 7,76 (3H, s, C<sub>5</sub>H<sub>3</sub>N); 9,76 (2H, s, OH), -CHN (%) gef.: C 43,6; H 4,5; N 35,9-ber: C 43,1; H 4,6; N 35,9.

#### Pyridin-2,6-dihydroxamic-dichlorid

Zu einer gekühlten Lösung von Pyridin-2,6-dicarboxamidoxim (1,95 g; 10 mmol) in verdünnter HCl (20 ml conc. HCl + 8 ml H<sub>2</sub>O) wird unter Rühren vorsichtig eine Lösung von NaNO<sub>2</sub> (1,78 g; 25 mmol) in H<sub>2</sub>O (5 ml) getropft. Nach 1,5 h bei 0-10°C wird die Lösung 12h bei Raumtemperatur weiter gerührt. Anschließend wird der Niederschlag abfiltriert und mit H<sub>2</sub>O gewaschen. Nach dem Trocknen erhält man 2,0 g (79% d. Tr.) Produkt. M.p. 168-170°C (Zers.), - <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-D<sub>6</sub>): δ 8,00 (3H, s, C<sub>5</sub>H<sub>3</sub>N); 12,7 (2H, s, OH). - CHN (%) gef. C 33,7; H 2,2; N 16,6 - ber.: C 33,3; H 2,2; N 16,7.

#### 2,6-Bis-(1-aziridino-1-hydroxyiminomethyl)pyridin (6)

Zu einer auf 0°C gekühlten Lösung von Aziridin (0,65 g; 15 mmol) und N(C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>3</sub> (2,0 g; 20 mmol) in Acetonitril (20 ml) wird unter Rühren tropfenweise eine Suspension von Pyridin-2,6-dihydroxamicdichlorid (1,26 g; 5 mmol) in CH<sub>3</sub>CN (20 ml) gegeben. Man rührt 90 min. nach und filtert vom ausgefallenen Triethylamin-Hydrochlorid ab. Das Filtrat wird im Vakuum eingeeengt und mit Essigester versetzt. Man filtriert erneut und wäscht das Produkt mit CHCl<sub>3</sub> nach. Man erhält 0,76 g (60% d. Tr.) an Produkt. M.p. 194-196°C (Zers.). <sup>1</sup>H-NMR: δ 2,31 (8H, s, CH<sub>2</sub>); 7,73 (3H,

s, C<sub>5</sub>H<sub>3</sub>N); 10,64 (2H, s, OH). CHN (%) gef.: C 52,4; H 5,3; N 27,5 (C<sub>11</sub>H<sub>13</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub> x 0,25 H<sub>2</sub>O) - ber.: C 52,5; H 5,4; N 27,8.

5 In analoger Weise erhält man die folgenden Verbindungen:

Beispiel 2

1,4-Bis-(1-aziridino-1-hydroxyiminomethyl)benzol (7)  
10 M.p. 220-222°C (Zers.). <sup>1</sup>H-NMR: δ 2,20 (8H, s, CH<sub>2</sub>); 7,00 (4H, s, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>); 12,6 (2H, s, OH). CHN (%) gef.: C 58,3; H 5,9; N 22,4 (C<sub>12</sub>H<sub>14</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>) - ber.: C 58,5; H 5,7; N 22,7.

Beispiel 3

1,4-Di-(α-2-carbamoylaziridino-α-hydroxyiminomethyl)-  
15 benzol (8)  
M.p. 248-250°C (Zers.). <sup>1</sup>H-NMR: δ 2,36 (4H, s, CH<sub>2</sub>); 2,82 (2H, m, CH); 7,16 und 7,47 (jeweils 2H, s, s, NH<sub>2</sub>); 7,64 (4H, s, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>); 10,6 (2H, s OH). CHN (%) gef.: C 50,3; H 4,9; N 24,9 (C<sub>14</sub>H<sub>16</sub>N<sub>6</sub>O<sub>4</sub>) - ber.: C 50,6; H 4,8; N 25,3.

Beispiel 4

1,3-Bis-(1-aziridino-1-hydroxyiminomethyl)benzol (9)  
25 M.p. 179-181°C (Zers.). <sup>1</sup>H-NMR: δ 2,17 (8H, s, CH<sub>2</sub>); 7,31 (1H, t, C<sub>6</sub>H); 7,62 (2H, d, C<sub>6</sub>H<sub>2</sub>); 8,11 (1H, s, C<sub>6</sub>H); 11,3 (2H, s, OH). CHN (%) gef.: C 58,7; H 5,8; N 22,3 (C<sub>12</sub>H<sub>14</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>) - ber.: C 58,5; H 5,7; N 22,7.

Beispiel 5

1,3,5-Tris-(1-aziridino-1-hydroxyiminomethyl)benzol (10)  
30 M.p. >300°C (Zers.). <sup>1</sup>H-NMR: δ 2,16 (12H, s, CH<sub>2</sub>); 8,00 (3H, s, C<sub>6</sub>H<sub>3</sub>); 11,4 (3H, s, OH). CHN (%) gef.: C 54,1; H 5,4; N 25,0 (C<sub>15</sub>H<sub>18</sub>N<sub>6</sub>O<sub>3</sub>) - ber.: C 54,5; H 5,5; N 25,4.

Beispiel 6

1,3-Di-(α-2-carbamoylaziridino-α-hydroxyiminomethyl)-  
35 benzol (11)

- 5 M.p. 209-211°C (Zers.).  $^1\text{H-NMR}$ :  $\delta$  2,38 (4H, m,  $\text{CH}_2$ ); 3,02 (2H, m, CH); 7,16 und 7,42 (jeweils 2H, s, s,  $\text{NH}_2$ ); 7,42 (1H, t,  $\text{C}_6\text{H}$ ); 7,91 (1H, t,  $\text{C}_6\text{H}$ ); 10,6 (2H, m, OH). CHN (%) gef.: C 45,9; H 5,3; N 22,8 ( $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{N}_6\text{O}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$ ) - ber.: C 45,6; H 5,5; N 22,8.

Beispiel 7

2,6-Di-( $\alpha$ -2-carbamoylaziridino- $\alpha$ -hydroxyiminomethyl)-pyridin (12)

- 10 M.p. 206-208°C (Zers.).  $^1\text{H-NMR}$ :  $\delta$  2,38 (4H, m,  $\text{CH}_2$ ); 2,96 (2H, m, CH); 7,11 und 7,40 (jeweils 2H, ss,  $\text{NH}_2$ ); 7,76 (3H, s,  $\text{C}_5\text{H}_3\text{N}$ ); 10,78 (2H, s, OH). CHN (%) gef.: C 46,6; H 4,6; N 29,0 ( $\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{N}_7\text{O}_4$ ) - ber.: C 46,8; H 4,5; N 29,4.

15 Beispiel 8

3,5-Bis-(1-aziridino-1-hydroxyiminomethyl)pyridin (13)

- 20 M.p.  $>300^\circ\text{C}$  (Zers.).  $^1\text{H-NMR}$ :  $\delta$  2,27 (8H, s,  $\text{CH}_2$ ); 8,29 (1H, t, 4- $\text{C}_5\text{HN}$ ); 8,78 (2H, d, 2,6- $\text{C}_5\text{H}_2\text{N}$ ); 11,7 (2H, s, OH). CHN (%) gef.: C 53,7; H 5,1; N 28,2 ( $\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{N}_5\text{O}_2$ ) - ber.: C 53,4; H 5,3; N 28,3.

Beispiel 9

2,5-Bis-(1-aziridino-1-hydroxyiminomethyl)pyridin (14)

- 25 M.p. 190-192°C (Zers.).  $^1\text{H-NMR}$ :  $\delta$  2,22 (4H, s,  $\text{CH}_2$ ); 2,26 (4H, s,  $\text{CH}_2$ ); 7,76 (1H, d,  $\text{C}_5\text{HN}$ ); 7,96 (1H, d,  $\text{C}_5\text{HN}$ ); 8,78 (1H, s,  $\text{C}_5\text{HN}$ ); 11,7 (2H, s, OH). CHN (%) gef.: C 53,8; H 5,2; N 28,0 ( $\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{N}_5\text{O}_2$ ) - ber.: C 53,4; H 5,3; N 28,3.

Beispiel 10

30 2,4-Bis-(1-aziridino-1-hydroxyiminomethyl)pyridin (15)

- M.p.  $>300^\circ\text{C}$  (Zers.).  $^1\text{H-NMR}$ :  $\delta$  2,20 (8H, s,  $\text{CH}_2$ ); 7,53 (1H, dd,  $\text{C}_5\text{HN}$ ); 8,16 (1H, d,  $\text{C}_5\text{HN}$ ); 8,51 (1H, d,  $\text{C}_5\text{HN}$ ); 11,6 (1H, s, OH); 11,8 (1H, s, OH). CHN (%) gef.: C 53,4; H 5,5; N 28,0 ( $\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{N}_5\text{O}_2$ ) - ber.: C 53,4; H 5,3; N 28,3.

35

Beispiel 11

2,5,-Bis-(1-aziridino-1-hydroxyiminomethyl)furan (16)  
M.p. 182-184°C (Zers.). <sup>1</sup>H-NMR: δ 2,22 (8H, s, CH<sub>2</sub>); 6,78  
(2H, s, C<sub>4</sub>H<sub>2</sub>O); 10,5 (2H, s, OH). CHN (%) gef.: C 47,3; H  
5,6; N 22,1 (C<sub>10</sub>H<sub>12</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub>) - ber.: C 47,2; H 5,6; N 22,0.

5

Beispiel 12

3,4-Bis-[(aziridiny-1)-hydroxyiminomethyl]furoxan (17)  
M.p. >300°C (Zers.). <sup>1</sup>H-NMR: δ 2,18 (4H, s, CH<sub>2</sub>); 2,43  
(4H, s, CH<sub>2</sub>); 11,1 (1H, s, OH); 11,4 (1H, s, OH). CHN (%)  
gef.: C 38,2; H 4,2; N 32,9 (C<sub>8</sub>H<sub>10</sub>N<sub>6</sub>O<sub>4</sub>) - ber.: C 37,8; H  
4,0; N 33,1.

10

Beispiel 13

Bis-(2-methoxycarbonylaziridino)glyoxim (18)  
M.p. 212-214°C. <sup>1</sup>H-NMR: δ 2,36 (4H, m, CH<sub>2</sub>); 2,96 (2H, m,  
CH); 3,62 (6H, s, CH<sub>3</sub>); 10,71 (2H, s, OH). CHN (%) gef.:  
C 42,3; H 5,0; N 19,3 (C<sub>10</sub>H<sub>14</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub>) - ber.: C 42,0; H 4,9; N  
19,6.

15

Beispiel 14

Bis-(2-carbamoylaziridino)glyoxim (19)  
M.p. >300°C. <sup>1</sup>H-NMR: δ 2,28 (1H, m, CH); 2,40 (1H, m,  
CH); 2,83 (1H, m, CH); 7,09 und 7,24 (jeweils 1H, s, s,  
NH<sub>2</sub>); 10,65 (1H, s, OH). CHN (%) gef.: C 37,1; H 4,8; N  
32,1 (C<sub>8</sub>H<sub>12</sub>N<sub>6</sub>O<sub>4</sub>) - ber.: C 37,5; H 4,7; N 32,8.

20

Beispiel 15

2,2'-Azinobis(1-aziridino-1-hydroxyimino)propan (20)  
M.p. 172-174°C. <sup>1</sup>H-NMR: δ 1,91 (6H, s, CH<sub>3</sub>); 2,20 (8H, s,  
CH<sub>2</sub>); 10,9 (2H, s, OH). CHN (%) gef.: C 46,4; H 4,5; N  
32,2 (C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>N<sub>6</sub>O<sub>2</sub> x 0,5 H<sub>2</sub>O) - ber.: C 46,0; H 6,6; N 32,2.

25

Beispiel 16

2,2'-Azinobis[1-(2-carbamoylaziridino)-1-hydroxyimino]-  
propan (21)

30

35



M.p. 242-244°C (Zers.). <sup>1</sup>H-NMR: δ 1,98 (6H, s, CH<sub>3</sub>); 2,53 (2H, s, CH<sub>2</sub>); 2,53 (2H, m, CH<sub>2</sub>); 2,89 (2H, m, CH); 7,04 und 7,22 (jeweils 2H, ss, NH<sub>2</sub>); 11,02 (2H, s, OH). CHN (%) gef.: C 41,6; H 5,4; N 32,1 (C<sub>12</sub>H<sub>18</sub>N<sub>8</sub>O<sub>4</sub> x 0,5 H<sub>2</sub>O) - ber.: C 41,5; H 5,5; N 32,3.

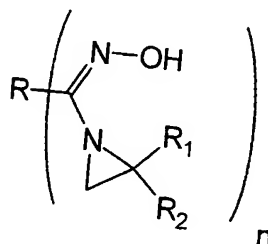
#### Beispiel 19

Zur Untersuchung der antiproliferativen Eigenschaften der erfindungsgemäßen Verbindungen wurde ein modifizierter Propidium-Iodid-Assay (Dengler, W.A., Schulte, J., Berger, P.B., Mertelsmann, R., Fiebig, H.H.: Anti-Cancer Drugs 6, 522-532, (1995)) wie nachfolgend beschrieben durchgeführt:

- 15 Tumorzellen aus in der exponentiellen Wachstumsphase befindlichen Zellkulturen, (RPMI Medium, 10% FCS) wurden geerntet, gezählt und in 96 well Microtiterplatten (140 µL Zell Suspension, 1x10<sup>5</sup> oder 5x10<sup>4</sup> Zellen/mL) überführt. Nach einer Zeitspanne von 24 h, in der die Zellen ihr exponentielles Wachstum wieder aufnahmen, wurden jeweils 20 10 µL der in Medium gelösten Testsubstanzen zugefügt (Jede Testkonzentration wurde dreifach bestimmt). Nach 3-6 Tagen Inkubationszeit (in Abhängigkeit von der Verdoppelungsrate der Zellen) wurde das Kulturmedium gegen 200 µL eines 25 frischen Mediums, welches Propidium- Iodid (25 µg/mL) enthielt, ausgetauscht. Die Mikrotiterplatten wurden dann 24 Stunden bei -18°C gelagert, um einen kompletten Zelltod zu erreichen. Nach dem Auftauen der Platten wurde die 30 Fluoreszenz mittels eines Millipore Cytoflour 2350 (Anregung 530 nm, Emission 620 nm) gemessen. Die IC<sub>50</sub>-Werte der Testverbindungen wurden gemäß der publizierten Formel berechnet. Konnte eine IC<sub>50</sub> nicht innerhalb der untersuchten Dosis Einheiten bestimmt werden, wurde die jeweils niedrigste bzw. höchste untersuchte Konzentration 35 für die Kalkulation benutzt.

## Patentansprüche

1. 1-Aziridino-1-hydroxyiminomethyl-Derivate der allge-  
meinen Formel I



worin

R einen beliebigen organischen Rest bedeutet, der in der Lage ist, zwei Aziridinoxim-Gruppierungen kovalent zu binden,

R<sub>1</sub> und R<sub>2</sub> unabhängig voneinander für ein Wasserstoffatom oder eine -CH<sub>3</sub>, -C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, -CN, -COOH, -COOCH<sub>3</sub>, -COOC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, -CONH<sub>2</sub> oder -C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> Gruppe stehen,

n die ganze Zahl 2 ist.

2. 1-Aziridino-1-hydroxyiminomethyl-Derivate gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß R ein beliebiger organischer Rest ist, der ausgewählt ist aus

einer Einfachbindung, linearen oder verzweigten und gesättigten oder ungesättigten Alkanen oder Heteroalkanen mit bis zu 6 C-Atomen und mit bis zu vier Heteroatomen, C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>-Cycloalkanen, welche gegebenenfalls mit kurzkettigen C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl-, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkoxy-, Nitro-,

Amino-, monosubstituierten Amino-, und/oder Halogen-  
Resten substituiert sind,

heterocyclischen Verbindungen mit 3 bis 6 Ringatomen  
und bis zu vier Heteroatomen,

aromatischen Verbindungen mit bis zu 8 Ringatomen,  
welche gegebenenfalls mit Cyano-, Hydroxy-, kurzket-  
tige C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl-, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkoxy-, Nitro-, Amino-, mo-  
nosubstituierten Amino-, Trihalogenalkyl- und/oder  
Halogen-Resten substituiert sind und

Heteroarylen mit 3 bis 7 Ringatomen und bis zu vier  
Heteroatomen.

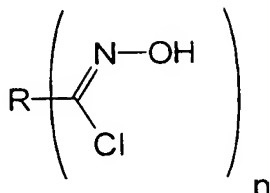
3. 1-Aziridino-1-hydroxyiminomethyl-Derivate gemäß An-  
spruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß der Grundkörper  
R ausgewählt ist aus Einfachbindung, Methyl, Ethan,  
Ethen, Ethin, Propan, Isopropan, Butan, Isobutan,  
sec-Butan, Pentan, Isopentan, Neopentan, Hexan, Azin,  
Cylopropan, Cyclobutan, Cyclopentan, Cyclohexan, Cyc-  
loheptan, Cyclooctan, Pyrrol, Pyrrolin, Pyrrolidin,  
Imidazol, Imidazolin, Pyrazolidin, Thiazol, Thiazol-  
lin, Thiazolidin, Isothiazol, Isothiazolin, Isothia-  
zolidin, Benzothiazol, Furan, Dihydrofuran, Tetra-  
hydrofuran, Benzofuran, Thiophen, Benzothiophen, Oxa-  
zol, Oxazolin, Oxazolidin, Benzoxazol, Isoxazol, Iso-  
xazolin, Isoxazolidin, Piperidin, Piperazin, Pyrimi-  
din, Morpholin, Dihydropyran, Tetrahydropyran, Pyri-  
dazin, Benzol, Furoxan, Imidazol, Imidazolin, Imida-  
zolidin, Pyrazol, Pyrazolin, Pyrazolidin, Pyridin und  
dessen N-Oxid, Dihydropyridin, Pyrimidin, Pyrazin.

4. 1-Aziridino-1-hydroxyiminomethyl-Derivate gemäß einem  
der voranstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet,

daß  $R_1$  und  $R_2$  unabhängig von einander Wasserstoffatome sind oder einen Rest  $-CONH_2$  darstellen.

5. 1-Aziridino-1-hydroxyiminomethyl-Derivate gemäß Anspruch 1, nämlich
- 2,6-Bis-(1-aziridino-1-hydroxyiminomethyl)pyridin (6),
- 1,4-Bis-(1-aziridino-1-hydroxyiminomethyl)benzol (7),
- 1,4-Di-( $\alpha$ -2-carbamoylaziridino- $\alpha$ -hydroxyiminomethyl)-benzol (8),
- 1,3-Bis-(1-aziridino-1-hydroxyiminomethyl)benzol (9)
- 1,3,5-Tris-(1-aziridino-1-hydroxyiminomethyl)benzol (10),
- 1,3-Di-( $\alpha$ -2-carbamoylaziridino- $\alpha$ -hydroxyiminomethyl)-benzol (11),
- 2,6-Di-( $\alpha$ -2-carbamoylaziridino- $\alpha$ -hydroxyiminomethyl)-pyridin (12),
- 3,5-Bis-(1-aziridino-1-hydroxyiminomethyl)pyridin (13),
- 2,5-Bis-(1-aziridino-1-hydroxyiminomethyl)pyridin (14),
- 2,4-Bis-(1-aziridino-1-hydroxyiminomethyl)pyridin (15),
- 2,5,-Bis-(1-aziridino-1-hydroxyiminomethyl)furan (16),
- 3,4-Bis-[(aziridinyl-1)-hydroxyiminomethyl]furoxan (17),
- Bis-(2-methoxycarbonylaziridino)glyoxim (18),
- Bis-(2-carbamoylaziridino)glyoxim (19),
- 2,2'-Azinobis(1-aziridino-1-hydroxyimino)propan (20) und
- 2,2'-Azinobis[1-(2-carbamoylaziridino)-1-hydroxyimino]propan (21)
6. Verfahren zur Herstellung von 1-Aziridino-1-hydroxyiminomethyl-Derivaten gemäß Anspruch 1, wobei

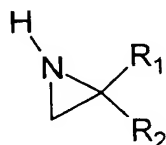
man in an sich bekannter Weise eine Halogenverbindung der allgemeinen Formel II



II

5

worin R und n die in Anspruch 1 angegebene Bedeutung haben,  
mit einem Aziridin-Derivat der allgemeinen Formel III



III

10

worin R<sub>1</sub> und R<sub>2</sub> die in Anspruch 1 angegebene Bedeutung haben, umgesetzt

- 15      7. Arzneimittel, gekennzeichnet durch einen Gehalt an einer Verbindung gemäß einem der Ansprüche 1 bis 6.
- 20      8. Verwendung der 1-Aziridino-1-hydroxyiminomethyl-Derivate gemäß Anspruch 1 zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung von Tumoren oder von Krebserkrankungen.
- 25      9. Verwendung der 1-Aziridino-1-hydroxyiminomethyl-Derivate gemäß Anspruch 1 zur Behandlung von Tumoren oder von Krebserkrankungen.

10. Verwendung von 1,1'-[1,2-bis-(Hydroximino-)-1,2-ethandiyl]bis-aziridin zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung von Tumoren oder von Krebserkrankungen.
- 5
11. Verwendung von 1,1'-[1,2-bis-(Hydroximino-)-1,2-ethandiyl]bis-aziridin zur Behandlung von Tumoren oder von Krebserkrankungen.

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES  
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum  
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum  
29. März 2001 (29.03.2001)

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer  
WO 01/21585 A3

PCT

(51) Internationale Patentklassifikation<sup>7</sup>: C07D 203/12,  
401/14, 405/14, 413/14, A61K 31/44, 31/395, 31/415,  
A61P 35/00

(74) Anwalt: SCHUBERT, Klemens; Joachimstrasse 9, 10119  
Berlin (DE).

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE00/03441

(81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AG, AL, AM, AT,  
AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CR, CU,  
CZ, DE, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM,  
HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK,  
LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX,  
MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL,  
TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

(22) Internationales Anmeldedatum:  
22. September 2000 (22.09.2000)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:  
199 47 440.0 24. September 1999 (24.09.1999) DE

(84) Bestimmungsstaaten (regional): ARIPO-Patent (GH,  
GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eura-  
sisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM),  
europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI,  
FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI-Patent  
(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE,  
SN, TD, TG).

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von  
US): ANALYTICON DISCOVERY GMBH [DE/DE];  
Hermannswerder Haus 17, 14473 Potsdam (DE).

Veröffentlicht:

— mit internationalem Recherchenbericht

(72) Erfinder; und

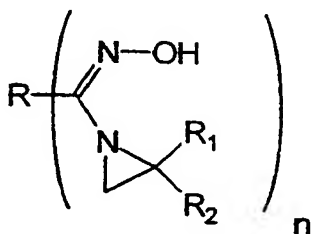
(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): KALVINS, Ivars  
[LV/LV]; Miera Strasse 17-8, LV-2165 Salaspils (LV).  
ADRIANOV, Viktor [LV/LV]; Zemes Strasse 4-11,  
LV-1063 Riga (LV). SHESTAKOVA, Irina [LV/LV];  
Spilves Strasse 7-37, LV-1055 Riga (LV). KANEPE,  
Iveta [LV/LV]; Zentes Strasse 16-28, LV-1064 Riga  
(LV). DOMRACHEVA, Ilona [LV/LV]; Maskavas Strasse  
303-86, LV-1063 Riga (LV).

(88) Veröffentlichungsdatum des internationalen  
Recherchenberichts: 11. Oktober 2001

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes, und der anderen  
Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on  
Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe  
der PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: BIS(1-AZIRIDINO-1-HYDROXYIMINOMETHYL)-DERIVATIVES, METHOD FOR THE PRODUCTION  
THEREOF AND USE THEREOF AS ANTI-TUMORAL AGENTS

(54) Bezeichnung: BIS-(AZIRIDINO-1-HYDROXYIMINOMETHYL)-DERIVATE, VERFAHREN ZU DEREN HERSTEL-  
LUNG UND DEREN VERWENDUNG ALS ANTITUMORMITTEL



(I)

(57) Abstract: Disclosed are novel 1-aziridino-1-hydroxyiminomethyl derivatives of general formula (I), wherein R represents any organic group which can covalently bond to two aziridinomethyl groups, R<sub>1</sub> and R<sub>2</sub> independently represent a hydrogen atom or a CH<sub>3</sub>, -C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, -CN, -COOH, -COOCH<sub>3</sub>, -COOC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, -CONH<sub>2</sub> or -C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> group, and n stands for a whole number 2. The invention also relates to a method for the production of said compounds and pharmaceutical products containing said compounds. The compounds of general formula (I) have an anti-tumoral effect.

(57) Zusammenfassung: Beschrieben sind neue 1-Aziridino-1-hydroxyiminomethyl-Derivate der allgemeinen Formel (I), worin R einen beliebigen organischen Rest bedeutet, der in der Lage ist, zwei Aziridinomethyl-Gruppierungen kovalent zu binden, R<sub>1</sub> und R<sub>2</sub> unabhängig voneinander für ein Wasserstoffatom oder eine -CH<sub>3</sub>, -C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, -CN, -COOH, -COOCH<sub>3</sub>, -COOC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, -CONH<sub>2</sub> oder -C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> Gruppe stehen, n für eine ganze Zahl 2 steht, sowie ein Verfahren zu deren Herstellung und diese Verbindungen enthaltende Arzneimittel. Die Verbindungen der allgemeinen Formel (I) zeigen antitumorale Wirkung.

WO 01/21585 A3





# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.

PO E 00/03441

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 C07D203/12 C07D401/14 C07D405/14 C07D413/14 A61K31/44  
A61K31/395 A61K31/415 A61P35/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C07D

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

BEILSTEIN Data, EPO-Internal, WPI Data, PAJ, CHEM ABS Data

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EREMEEV A.V. ET AL.: "Synthesis and investigation of aziridino dioximes" CHEMISTRY OF HETEROCYCLIC COMPOUNDS (ENGL. TRANSLATION), US, PLENUM PRESS CO., NEW YORK, NY, vol. 18, no. 4, 1982, pages 369-374, XP000986399 Verbindungen IV und IX page 369 & KHIMIYA GETEROTSIKLICHESKIKH SOEDINENII, no. 4, 1982, pages 488-494, cited in the application	1-3,6
A	WO 84 04523 A (RIJKSUNIVERSTEIT TE GRONINGEN) 22 November 1984 (1984-11-22) the whole document	1-11
	-/-	

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

### \* Special categories of cited documents:

- \*A\* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- \*E\* earlier document but published on or after the international filing date
- \*L\* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- \*O\* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- \*P\* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- \*T\* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- \*X\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- \*Y\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- \*&\* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

21 March 2001

Date of mailing of the international search report

27/03/2001

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl  
Fax (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Hartrampf, 6



# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.  
DE 00/03441

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A.	US 4 617 398 A (BARDOS T.J. & PERLMAN M.E.) 14 October 1986 (1986-10-14) the whole document -----	1-11
A	US 4 806 531 A (SARTORELLI A.C. & LIN T.-S.) 21 February 1989 (1989-02-21) the whole document -----	1-11
A	US 5 612 329 A (CALLERY P.S. ET AL.) 18 March 1997 (1997-03-18) the whole document -----	1-11



# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

information on patent family members

Intern. nat. application No

PCT/DE 03441

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 8404523	A	22-11-1984	NL 8301626 A	03-12-1984
			AU 560606 B	09-04-1987
			AU 2867984 A	04-12-1984
			DK 7485 A	07-01-1985
			EP 0142543 A	29-05-1985
			JP 60501257 T	08-08-1985
US 4617398	A	14-10-1986	US 4886790 A	12-12-1989
			US 4544501 A	01-10-1985
US 4806531	A	21-02-1989	NONE	
US 5612329	A	18-03-1997	NONE	



## A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 7 C07D203/12 C07D401/14 C07D405/14 C07D413/14 A61K31/44  
A61K31/395 A61K31/415 A61P35/00

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

## B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 C07D

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

BEILSTEIN Data, EPO-Internal, WPI Data, PAJ, CHEM ABS Data

## C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	EREMEEV A.V. ET AL.: "Synthesis and investigation of aziridino dioximes" CHEMISTRY OF HETEROCYCLIC COMPOUNDS (ENGL. TRANSLATION), US, PLENUM PRESS CO., NEW YORK, NY, Bd. 18, Nr. 4, 1982, Seiten 369-374, XP000986399 Verbindungen IV und IX Seite 369 & KHIMIYA GETEROTSIKLICHESKIKH SOEDINENII, Nr. 4, 1982, Seiten 488-494, in der Anmeldung erwähnt	1-3,6
A	WO 84 04523 A (RIJKSUNIVERSTEIT TE GRONINGEN) 22. November 1984 (1984-11-22) das ganze Dokument	1-11

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie

\* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

\*A\* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

\*E\* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

\*L\* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

\*O\* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

\*P\* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

\*T\* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

\*X\* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

\*Y\* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

\*Z\* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

21. März 2001

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

27/03/2001

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde  
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Hartrampf, G





## C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	US 4 617 398 A (BARDOS T.J. & PERLMAN M.E.) 14. Oktober 1986 (1986-10-14) das ganze Dokument	1-11
A	US 4 806 531 A (SARTORELLI A.C. & LIN T.-S.) 21. Februar 1989 (1989-02-21) das ganze Dokument	1-11
A	US 5 612 329 A (CALLERY P.S. ET AL.) 18. März 1997 (1997-03-18) das ganze Dokument	1-11



# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internat. Patentzeichen

PCT/DE 90/03441

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
WO 8404523	A	22-11-1984	NL	8301626 A	03-12-1984
			AU	560606 B	09-04-1987
			AU	2867984 A	04-12-1984
			DK	7485 A	07-01-1985
			EP	0142543 A	29-05-1985
			JP	60501257 T	08-08-1985
US 4617398	A	14-10-1986	US	4886790 A	12-12-1989
			US	4544501 A	01-10-1985
US 4806531	A	21-02-1989	KEINE		
US 5612329	A	18-03-1997	KEINE		



Translation

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

10/08-1034

RECEIVED

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT MAY 02 2003

(PCT Article 36 and Rule 70)

TECH CENTER 1600/2900

Applicant's or agent's file reference A01/1106/WO	<b>FOR FURTHER ACTION</b> See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/DE00/03441	International filing date (day/month/year) 22 September 2000 (22.09.00)	Priority date (day/month/year) 24 September 1999 (24.09.99)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC C07D 203/00		
Applicant ANALYTICON DISCOVERY GMBH		

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.

2. This REPORT consists of a total of 7 sheets, including this cover sheet.

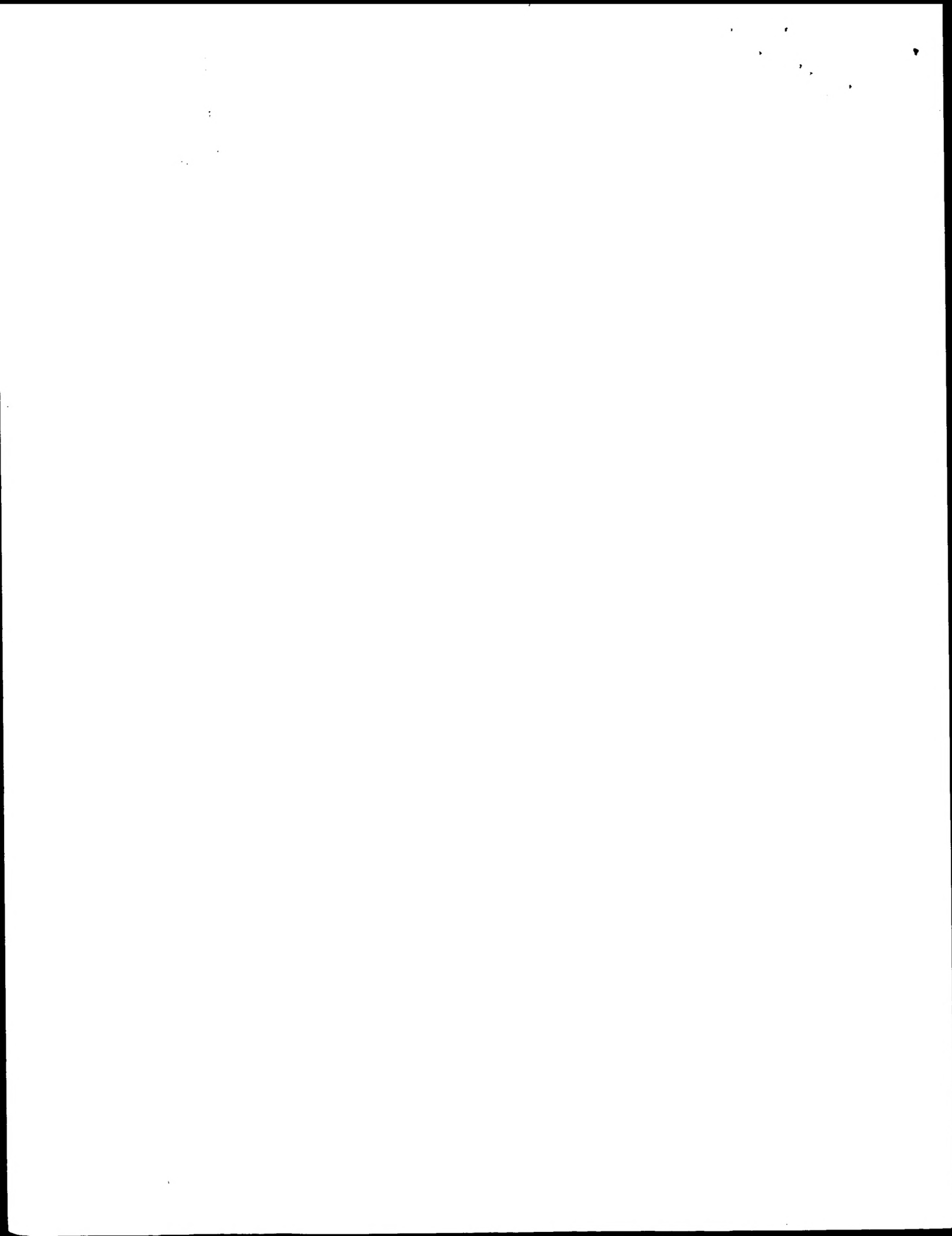
☐ This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).

These annexes consist of a total of \_\_\_\_\_ sheets.

3. This report contains indications relating to the following items:

- I ☒ Basis of the report
- II ☐ Priority
- III ☒ Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- IV ☐ Lack of unity of invention
- V ☒ Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- VI ☐ Certain documents cited
- VII ☒ Certain defects in the international application
- VIII ☐ Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 18 April 2001 (18.04.01)	Date of completion of this report 04 December 2001 (04.12.2001)
Name and mailing address of the IPEA/EP	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.



# INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/DE00/03441

## I. Basis of the report

1. This report has been drawn on the basis of *(Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to the report since they do not contain amendments.)*:

- ☒ the international application as originally filed.
- ☒ the description, pages 1-15, as originally filed,  
 pages \_\_\_\_\_, filed with the demand,  
 pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_,  
 pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_.
- ☒ the claims, Nos. 1-11, as originally filed,  
 Nos. \_\_\_\_\_, as amended under Article 19,  
 Nos. \_\_\_\_\_, filed with the demand,  
 Nos. \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_,  
 Nos. \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_.
- ☐ the drawings, sheets/fig \_\_\_\_\_, as originally filed,  
 sheets/fig \_\_\_\_\_, filed with the demand,  
 sheets/fig \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_,  
 sheets/fig \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_.

2. The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages \_\_\_\_\_
- ☐ the claims, Nos. \_\_\_\_\_
- ☐ the drawings, sheets/fig \_\_\_\_\_

3. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).

4. Additional observations, if necessary:





## INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/DE00/03441

## III. Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability

The questions whether the claimed invention appears to be novel, to involve an inventive step (to be non obvious), or to be industrially applicable have not been examined in respect of:

- ☐ the entire international application.
- ☒ claims Nos. 9,11.

because:

- ☒ the said international application, or the said claims Nos. 9,11  
relate to the following subject matter which does not require an international preliminary examination (*specify*):

See Annexes

- ☐ the description, claims or drawings (*indicate particular elements below*) or said claims Nos. \_\_\_\_\_  
are so unclear that no meaningful opinion could be formed (*specify*):

- ☐ the claims, or said claims Nos. \_\_\_\_\_ are so inadequately supported  
by the description that no meaningful opinion could be formed.

- ☐ no international search report has been established for said claims Nos. \_\_\_\_\_



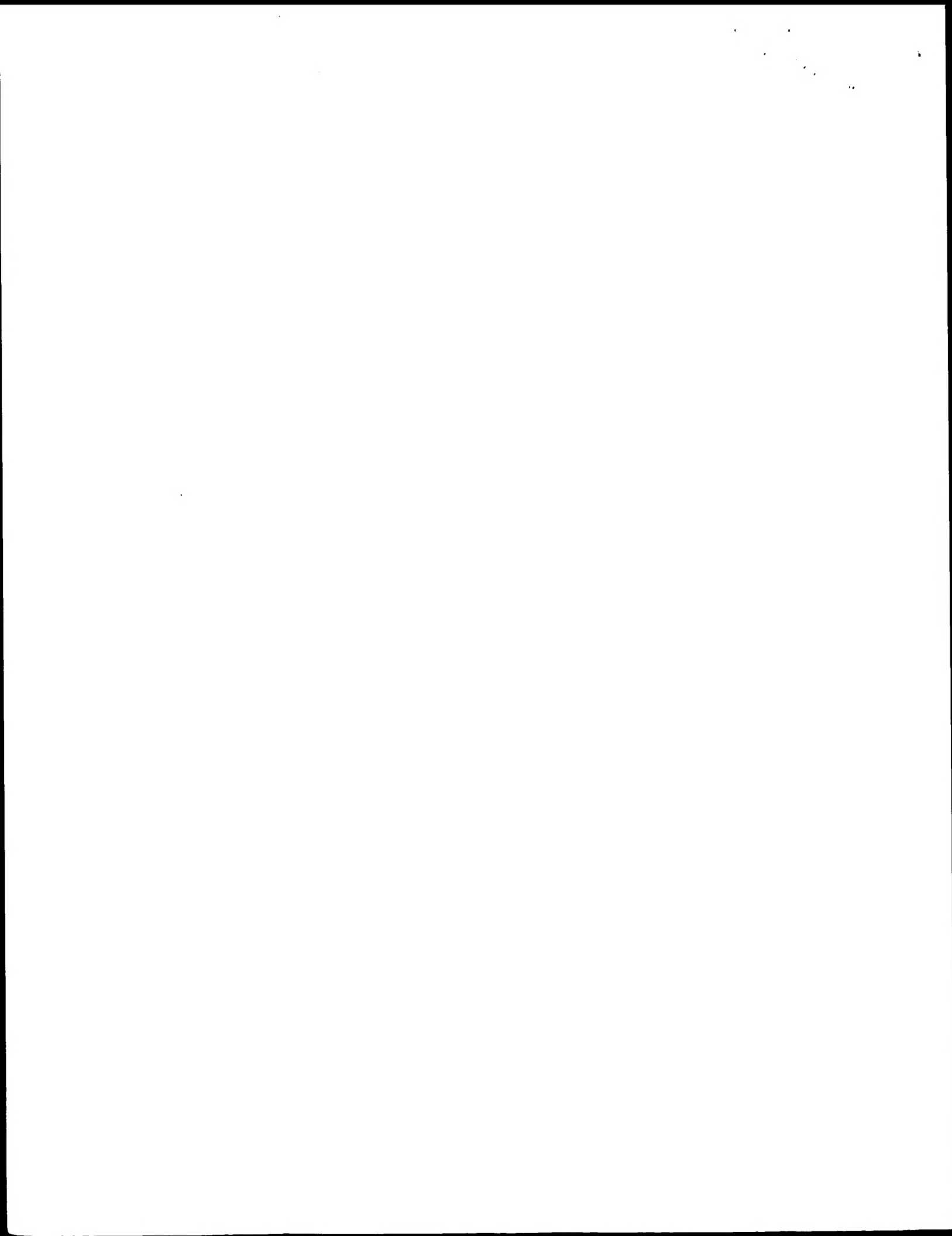
**Supplemental Box**

(To be used when the space in any of the preceding boxes is not sufficient)

Continuation of: **BOX III**

1. In the PCT Contracting States, there are no uniform criteria for assessing the industrial applicability of Claims 9 and 11 in their present form. Patentability can also depend on the wording of the claims. The EPO, for example, does not recognise the industrial applicability of claims to the use of a compound in a medical treatment; it does, however, allow claims to the first use of a known compound in a medical treatment or to the use of such a compound in the manufacture of a drug for a new medical treatment.

Claims 9 and 11 are directed to a subject matter which, in the opinion of the Examining Authority, falls under PCT Rule 67.1(iv). Consequently, no opinion is formed on the industrial applicability of the subject matter of these claims (PCT Article 34(4)(a)(i)).



## INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/DE 00/03441

## V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

## 1. Statement

Novelty (N)	Claims	5, 7-11	YES
	Claims	1-4, 6	NO
Inventive step (IS)	Claims	5, 10, 11	YES
	Claims	1-4, 6-9	NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-8, 10	YES
	Claims		NO

## 2. Citations and explanations

## 1. PRIOR ART

The following documents cited in the international search report were taken into account when assessing the present application:

D1: Chemistry of Heterocyclic Compounds (Engl. translation), US, Plenum Press Co., New York, NY (1982), 18(4), 369-374

D2: WO-A-84/04523

D3: US-A-4 617 398

D4: US-A-4 806 531

D5: US-A-5 612 329.

## 2. NOVELTY

The subject matter of the present application, which concerns bis(1-aziridino-1-hydroxyiminomethyl) derivatives of Formula (I) as defined in Claim 1, does not appear to be novel over the above-mentioned reference documents (PCT Article 33(2)).

D1 describes in Formulae (IV) and (IX) the two compounds 1,2-bis-(aziridin-N-yl)glyoxim and 1,2-



bis-(2-methylaziridin-N-yl)glyoxim, which are covered by the present Claims 1, 2, 3, 4 and 6 when R stands for a simple bond in Formula (I).

D2-D5 likewise concern bis-aziridine compounds, but the aziridine groups are not bonded via a hydroxyiminomethyl group.

### 3. INVENTIVE STEP

The applicant appears to have addressed the problem of providing bis(1-aziridino-1-hydroxyiminomethyl) derivatives of Formula (I) useful for the treatment of tumours or cancerous diseases (see page 9 of the description).

- 3.1 The compounds described in the above-mentioned documents D2-D5 already showed anti-tumoral effects (see D2 and D3), an anti-cancerous effect (see D4) or an anti-neoplastic effect (see D5). However, no pharmacological effect has been described for the compounds known from D1.

In view of the presently available prior art, the structural modification of the claimed compounds, starting from the prior art documents D2-D5, which show the closest effect, does not appear to be obvious or to be necessarily suggested.

Consequently, in view of the substantial modifications of the present compounds, in comparison with the available prior art compounds, the proposed solution to the problem could be considered inventive.





- 3.2 However, it should be noted that the effect that substantiates an inventive step should apply to the entire claimed scope. In view of the numerous possible substituents in Claims 1-4 (see Claim 1, in which R means any organic group), however, an inventive step cannot be acknowledged for the entire claimed scope of protection (PCT Article 33(3)).

In view of the test data already contained on page 9 of the application, only the scope of Claims 5, 10 and 11 appears to be plausible at present.

#### 4. INDUSTRIAL APPLICABILITY

Insofar as the present compounds actually show the claimed antitumoral effects, there are no objections with regard to industrial applicability (PCT Article 33(4)).



## VII. Certain defects in the international application

The following defects in the form or contents of the international application have been noted:

1. Contrary to PCT Rule 5.1(a)(ii), the description does not mention the documents cited in the search report.
2. Example 5 describes the compound 1,3,5-tris-(1-aziridino-1-hydroxyiminomethyl)benzene, which is not covered by the claimed scope of protection, since  $n = 2$  in Formula (I). See also page 3, line 34.



# VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

## PCT

### INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

(Artikel 18 sowie Regeln 43 und 44 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts <b>A01/1106/W0</b>	<b>WEITERES VORGEHEN</b>	siehe Mitteilung über die Übermittlung des internationalen Recherchenberichts (Formblatt PCT/ISA/220) sowie, soweit zutreffend, nachstehender Punkt 5
Internationales Aktenzeichen <b>PCT/DE 00/ 03441</b>	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) <b>22/09/2000</b>	(Frühestes) Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) <b>24/09/1999</b>
Anmelder  <b>ANALYTICON DISCOVERY GMBH et al.</b>		

Dieser internationale Recherchenbericht wurde von der Internationalen Recherchenbehörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 18 übermittelt. Eine Kopie wird dem Internationalen Büro übermittelt.

Dieser internationale Recherchenbericht umfaßt insgesamt 3 Blätter.



Darüber hinaus liegt ihm jeweils eine Kopie der in diesem Bericht genannten Unterlagen zum Stand der Technik bei.

#### 1. Grundlage des Berichts

- a. Hinsichtlich der **Sprache** ist die internationale Recherche auf der Grundlage der internationalen Anmeldung in der Sprache durchgeführt worden, in der sie eingereicht wurde, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.



Die internationale Recherche ist auf der Grundlage einer bei der Behörde eingereichten Übersetzung der internationalen Anmeldung (Regel 23.1 b)) durchgeführt worden.

- b. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale Recherche auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das



in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.



zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.



bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.



bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.



Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.



Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfaßten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

2. ☐ **Bestimmte Ansprüche haben sich als nicht recherchierbar erwiesen** (siehe Feld I).

3. ☐ **Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung** (siehe Feld II).

#### 4. Hinsichtlich der **Bezeichnung der Erfindung**



wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.



wurde der Wortlaut von der Behörde wie folgt festgesetzt:

**BIS (1-AZIRIDINO-1-HYDROXYIMINOMETHYL) -DERIVATE, VERFAHREN ZU DEREN HERSTELLUNG UND DEREN VERWENDUNG ALS ANTITUMORMITTEL**

#### 5. Hinsichtlich der **Zusammenfassung**



wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.



wurde der Wortlaut nach Regel 38.2b) in der in Feld III angegebenen Fassung von der Behörde festgesetzt. Der Anmelder kann der Behörde innerhalb eines Monats nach dem Datum der Absendung dieses internationalen Recherchenberichts eine Stellungnahme vorlegen.

6. Folgende Abbildung der **Zeichnungen** ist mit der Zusammenfassung zu veröffentlichen: Abb. Nr. \_\_\_\_\_



wie vom Anmelder vorgeschlagen



keine der Abb.



weil der Anmelder selbst keine Abbildung vorgeschlagen hat.



weil diese Abbildung die Erfindung besser kennzeichnet.



## A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 7 C07D203/12 C07D401/14 C07D405/14 C07D413/14 A61K31/44  
A61K31/395 A61K31/415 A61P35/00

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

## B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 C07D

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

BEILSTEIN Data, EPO-Internal, WPI Data, PAJ, CHEM ABS Data

## C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	EREMEEV A.V. ET AL.: "Synthesis and investigation of aziridino dioximes" CHEMISTRY OF HETEROCYCLIC COMPOUNDS (ENGL. TRANSLATION), US, PLENUM PRESS CO., NEW YORK, NY, Bd. 18, Nr. 4, 1982, Seiten 369-374, XP000986399 Verbindungen IV und IX Seite 369 & KHIIMIYA GETEROTSIKLICHESKIKH SOEDINENII, Nr. 4, 1982, Seiten 488-494, in der Anmeldung erwähnt	1-3,6
A	WO 84 04523 A (RIJKSUNIVERSTEIT TE GRONINGEN) 22. November 1984 (1984-11-22) das ganze Dokument	1-11
	--- -/--	



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



Siehe Anhang Patentfamilie

\* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

\*A\* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

\*E\* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

\*L\* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

\*O\* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

\*P\* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

\*T\* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

\*X\* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

\*Y\* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

\*Z\* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

21. März 2001

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

27/03/2001

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde

Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Hartrampf, G





## C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	US 4 617 398 A (BARDOS T.J. & PERLMAN M.E.) 14. Oktober 1986 (1986-10-14) das ganze Dokument ---	1-11
A	US 4 806 531 A (SARTORELLI A.C. & LIN T.-S.) 21. Februar 1989 (1989-02-21) das ganze Dokument ---	1-11
A	US 5 612 329 A (CALLERY P.S. ET AL.) 18. März 1997 (1997-03-18) das ganze Dokument -----	1-11



# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/JP 00/03441

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 8404523	A	22-11-1984	NL 8301626 A	03-12-1984
			AU 560606 B	09-04-1987
			AU 2867984 A	04-12-1984
			DK 7485 A	07-01-1985
			EP 0142543 A	29-05-1985
			JP 60501257 T	08-08-1985
<hr/>				
US 4617398	A	14-10-1986	US 4886790 A	12-12-1989
			US 4544501 A	01-10-1985
<hr/>				
US 4806531	A	21-02-1989	NONE	
<hr/>				
US 5612329	A	18-03-1997	NONE	
<hr/>				



# VERTRAG ÜBER D INTERNATIONALE ZUSAM NARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

## PCT

### INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

(Artikel 36 und Regel 70 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts A01/1106/WO	<b>WEITERES VORGEHEN</b> siehe Mitteilung über die Übersendung des internationalen vorläufigen Prüfungsberichts (Formblatt PCT/IPEA/416)	
Internationales Aktenzeichen PCT/DE00/03441	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 22/09/2000	Prioritätsdatum (Tag/Monat/Tag) 24/09/1999
Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK C07D203/00		
Anmelder ANALYTICON DISCOVERY GMBH et al.		

1. Dieser internationale vorläufige Prüfungsbericht wurde von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 36 übermittelt.
2. Dieser BERICHT umfaßt insgesamt 7 Blätter einschließlich dieses Deckblatts.  
☐ Außerdem liegen dem Bericht ANLAGEN bei; dabei handelt es sich um Blätter mit Beschreibungen, Ansprüchen und/oder Zeichnungen, die geändert wurden und diesem Bericht zugrunde liegen, und/oder Blätter mit vor dieser Behörde vorgenommenen Berichtigungen (siehe Regel 70.16 und Abschnitt 607 der Verwaltungsrichtlinien zum PCT).  
Diese Anlagen umfassen insgesamt Blätter.

3. Dieser Bericht enthält Angaben zu folgenden Punkten:  

I	<input checked="" type="checkbox"/>	Grundlage des Berichts
II	<input type="checkbox"/>	Priorität
III	<input checked="" type="checkbox"/>	Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit
IV	<input type="checkbox"/>	Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung
V	<input checked="" type="checkbox"/>	Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung
VI	<input type="checkbox"/>	Bestimmte angeführte Unterlagen
VII	<input checked="" type="checkbox"/>	Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung
VIII	<input type="checkbox"/>	Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Datum der Einreichung des Antrags 18/04/2001	Datum der Fertigstellung dieses Berichts 04.12.2001
Name und Postanschrift der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde:  Europäisches Patentamt D-80298 München Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Bevollmächtigter Bediensteter vanVoorsttotVoorst,M Tel. Nr. +49 89 2399 8280 



**I. Grundlage des Berichts**

1. Hinsichtlich der **Bestandteile** der internationalen Anmeldung (*Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Berichts als "ursprünglich eingereicht" und sind ihm nicht beigelegt, weil sie keine Änderungen enthalten (Regeln 70.16 und 70.17)*):  
**Beschreibung, Seiten:**

1-15                      ursprüngliche Fassung

**Patentansprüche, Nr.:**

1-11                      ursprüngliche Fassung

2. Hinsichtlich der **Sprache**: Alle vorstehend genannten Bestandteile standen der Behörde in der Sprache, in der die internationale Anmeldung eingereicht worden ist, zur Verfügung oder wurden in dieser eingereicht, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

Die Bestandteile standen der Behörde in der Sprache: zur Verfügung bzw. wurden in dieser Sprache eingereicht; dabei handelt es sich um

- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen Recherche eingereicht worden ist (nach Regel 23.1(b)).
- ☐ die Veröffentlichungssprache der internationalen Anmeldung (nach Regel 48.3(b)).
- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen vorläufigen Prüfung eingereicht worden ist (nach Regel 55.2 und/oder 55.3).

3. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale vorläufige Prüfung auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das:

- ☐ in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.
- ☐ zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.
- ☐ bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.
- ☐ Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfassten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

4. Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:

- ☐ Beschreibung,              Seiten:
- ☐ Ansprüche,                Nr.:
- ☐ Zeichnungen,              Blatt:





5. ☐ Dieser Bericht ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der Änderungen erstellt worden, da diese aus den angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2(c)).

*(Auf Ersatzblätter, die solche Änderungen enthalten, ist unter Punkt 1 hinzuweisen; sie sind diesem Bericht beizufügen).*

6. Etwaige zusätzliche Bemerkungen:

**III. Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit**

1. Folgende Teile der Anmeldung wurden nicht daraufhin geprüft, ob die beanspruchte Erfindung als neu, auf erfinderischer Tätigkeit beruhend (nicht offensichtlich) und gewerblich anwendbar anzusehen ist:

☐ die gesamte internationale Anmeldung.

☒ Ansprüche Nr. 9, 11.

**Begründung:**

☒ Die gesamte internationale Anmeldung, bzw. die obengenannten Ansprüche Nr. 9, 11 beziehen sich auf den nachstehenden Gegenstand, für den keine internationale vorläufige Prüfung durchgeführt werden braucht *(genaue Angaben)*:  
**siehe Beiblatt**

☐ Die Beschreibung, die Ansprüche oder die Zeichnungen *(machen Sie hierzu nachstehend genaue Angaben)* oder die obengenannten Ansprüche Nr. sind so unklar, daß kein sinnvolles Gutachten erstellt werden konnte *(genaue Angaben)*:

☐ Die Ansprüche bzw. die obengenannten Ansprüche Nr. sind so unzureichend durch die Beschreibung gestützt, daß kein sinnvolles Gutachten erstellt werden konnte.

☐ Für die obengenannten Ansprüche Nr. wurde kein internationaler Recherchenbericht erstellt.

2. Eine sinnvolle internationale vorläufige Prüfung kann nicht durchgeführt werden, weil das Protokoll der Nukleotid- und/oder Aminosäuresequenzen nicht dem in Anlage C der Verwaltungsvorschriften vorgeschriebenen Standard entspricht:

☐ Die schriftliche Form wurde nicht eingereicht bzw. entspricht nicht dem Standard.

☐ Die computerlesbare Form wurde nicht eingereicht bzw. entspricht nicht dem Standard.

**V. Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung**

1. Feststellung



# INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

Internationales Aktenzeichen PCT/DE00/03441

Neuheit (N)	Ja: Ansprüche	5,7-11
	Nein: Ansprüche	1-4,6
Erfinderische Tätigkeit (ET)	Ja: Ansprüche	5,10,11
	Nein: Ansprüche	1-4,6-9
Gewerbliche Anwendbarkeit (GA)	Ja: Ansprüche	1-8,10
	Nein: Ansprüche	

2. Unterlagen und Erklärungen  
**siehe Beiblatt**

## VII. Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung

Es wurde festgestellt, daß die internationale Anmeldung nach Form oder Inhalt folgende Mängel aufweist:  
**siehe Beiblatt**



**AD PUNKT III:**

1. Für die Beurteilung der Frage, ob die Gegenstände der vorliegenden Ansprüche 9 und 11 gewerblich anwendbar sind, gibt es in den PCT-Vertragsstaaten keine einheitlichen Kriterien. Die Patentierbarkeit kann auch von der Formulierung der Ansprüche abhängen. Das EPA beispielsweise erkennt den Gegenstand von Ansprüchen, die auf die medizinische Anwendung einer Verbindung gerichtet sind, nicht als gewerblich anwendbar an; es können jedoch Ansprüche zugelassen werden, die auf eine bekannte Verbindung zur erstmaligen medizinischen Anwendung und die Verwendung einer solchen Verbindung zur Herstellung eines Arzneimittels für eine neue medizinische Anwendung gerichtet sind.

Die Ansprüche 9 und 11 beziehen sich auf einen Gegenstand, der nach Auffassung dieser Behörde unter die Regel 67.1 (iv) PCT fällt. Daher wird über die gewerbliche Anwendbarkeit des Gegenstands dieser Ansprüche kein Gutachten erstellt (Artikel 34(4) a) (i) PCT).

**AD PUNKT V:**

**1. STAND DER TECHNIK**

Bei der Beurteilung der vorliegenden Anmeldung wurden die folgenden im Internationalen Recherchenbericht zitierten Dokumente berücksichtigt

D1: Chemistry Of Heterocyclic Compounds (engl. Translation), Us, Plenum Press Co., New York, Ny (1982), 18(4), 369-374

D2: WO-A-8404523

D3: US-A-4617398

D4: US-A-4806531

D5: US-A-5612329

**2. NEUHEIT**

Gegenüber den obigen Entgegenhaltungen scheint der Gegenstand der vorliegenden Anmeldung, wobei es sich um Bis(1-Aziridino-1-Hydroxyimino-



methyl)-Derivate der Formel (I) in Anspruch 1 handelt, nicht neu zu sein, Artikel 33(2) PCT.

D1 beschreibt mit den Formeln (IV) und (IX) die beiden Verbindungen 1,2-Bis-(Aziridin-N-yl)glyoxim und 1,2-Bis-(2-Methylaziridin-N-yl)glyoxim, die von vorliegenden Ansprüchen 1, 2, 3, 4 und 6 umfaßt werden, falls R in Formel (I) eine Einfachbindung bedeutet.

D2 bis D5 betreffen ebenfalls Bis-aziridin Verbindungen, wobei jedoch die Aziridin-Reste nicht über eine Hydroxyiminomethyl-Gruppe gebunden sind.

### 3. ERFINDERISCHE TÄTIGKEIT

Der Anmelder scheint sich die Aufgabe gestellt zu haben, Bis(1-Aziridino-1-Hydroxyiminomethyl)-Derivate der Formel (I) bereit zu stellen, die zur Behandlung von Tumoren oder von Krebserkrankungen eingesetzt werden können, siehe Seite 9 der Beschreibung.

- 3.1. Die in den obengenannten Dokumenten D2 bis D5 beschriebenen Verbindungen weisen bereits Wirkungen gegen Tumoren (siehe D2 und D3) bzw. gegen Krebs (siehe D4) oder anti-neoplastische Wirkung (siehe D5) auf. Andererseits ist für die aus D1 bekannten Verbindungen keine pharmakologische Wirkung beschrieben worden.

Angesichts des zur Zeit vorliegenden Stands der Technik scheint die strukturelle Abwandlung der beanspruchten Verbindungen ausgehend vom wirkungsmäßig nächsten Stand der Technik D2 bis D5 weder offensichtlich noch zwingend nahegelegt.

Die vorgeschlagene Lösung des Problems könnte somit angesichts der Einführung wesentlicher Änderungen bei den vorliegenden Verbindungen im Vergleich zu denen des verfügbaren Standes der Technik als erfinderisch erachtet werden.

- 3.2. Allerdings wäre zu beachten, daß der eine erfinderische Tätigkeit begründende Effekt im behaupteten Umfang zutreffen muß. Angesichts der zahlreichen Möglichkeiten der auftretenden Substituenten in den Ansprüchen 1 bis 4 (siehe Anspruch 1 worin R einen beliebigen organischen Rest bedeutet) kann eine





erfinderische Tätigkeit im beanspruchten Umfang jedoch nicht anerkannt werden, Artikel 33(3) PCT.

Anhand der bereits in der Anmeldung auf Seite 9 enthaltenen Testdaten scheint gegenwärtig lediglich der Umfang von den Ansprüchen 5, 10 und 11 plausibel.

4. **GEWERBLICHE ANWENDBARKEIT**

Es bestehen keine Bedenken insofern die vorliegenden Verbindungen die behauptete antitumorale Wirkung auch tatsächlich aufweisen, Artikel 33(4) PCT.

**AD PUNKT VII:**

1. Die Erfordernisse der Regel 5.1(a)(ii) PCT sind nicht erfüllt, da in der Beschreibung die im Recherchenbericht genannten Dokumente nicht angegeben werden.
2. Beispiel 5 beschreibt die Verbindung 1,3,5-Tris-(1-aziridino-1-hydroxyimino-methyl)benzol, die nicht unter den Anspruchsumfang fällt, da in Formel (I) n 2 bedeutet. Siehe auch auf Seite 3, Zeile 34.



From the INTERNATIONAL BUREAU

PCT

NOTIFICATION OF ELECTION

(PCT Rule 61.2)

To:

Commissioner  
US Department of Commerce  
United States Patent and Trademark  
Office, PCT  
2011 South Clark Place Room  
CP2/5C24  
Arlington, VA 22202  
ETATS-UNIS D'AMERIQUE  
in its capacity as elected Office

<b>Date of mailing</b> (day/month/year) 01 November 2001 (01.11.01)	
<b>International application No.</b> PCT/DE00/03441	<b>Applicant's or agent's file reference</b> A01/1106/WO
<b>International filing date</b> (day/month/year) 22 September 2000 (22.09.00)	<b>Priority date</b> (day/month/year) 24 September 1999 (24.09.99)
<b>Applicant</b> KALVINS, Ivars et al	

1. The designated Office is hereby notified of its election made:

☒ in the demand filed with the International Preliminary Examining Authority on:  
18 April 2001 (18.04.01)

☐ in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:

2. The election ☒ was

☐ was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

<b>The International Bureau of WIPO</b> 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland Facsimile No.: (41-22) 740.14.35	<b>Authorized officer</b> Sean Taylor Telephone No.: (41-22) 338.83.38
--	--

